微生物製劑之開發及新技術應用

周浩平[1]、陳泰元[1]、陳明吟[1]、曾敏南[1]

[1] 高雄區農業改良場作物環境課植物保護研究室。屏東縣長治鄉。臺灣。

摘　要

微生物農藥屬於「生物性農藥」的一種，根據農委會對生物性農藥的定義，舉凡天然物質如動物、植物、微生物及其衍生產品，包括「天然素材農藥」、「微生物農藥」、「生化農藥」及基因工程產製的微生物農藥等，皆屬於生物性農藥，其中，「微生物農藥」無疑為目前投入最多研究能量之主題。微生物農藥具有對人無毒性的作用機制，只對目標性的病、蟲、草等有害生物有作用，對人畜、有益微生物與昆蟲之天敵較無毒害，且無藥物殘留與抗藥性的問題，相較於化學農藥之作用快速，微生物性農藥雖作用較慢，無法達立竿見影之效果，但可減輕環境生態的負擔，可供長期使用並符合永續農業經營之趨勢。目前具有防治作物病害潛力並具開發為生物農藥潛力的常見微生物種類如枯草桿菌 (*Bacillus subtilis*)、液化澱粉芽孢桿菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*)、放線菌 (*Streptomyces* spp.)、木黴菌 (*Trichoderma* spp.)、螢光假單胞菌 (*Pseudomonas* spp.)、蘇力菌 (*Bacillus thuringiensis*)、擬青黴菌 (*Isaria javanica*)、白殭菌 (*Beauveria* spp.)、黑殭菌 (*Metarhizium* spp.)、座殼菌 (*Aschersonia* spp.) 等，上述許多拮抗微生物經國內外各試驗研究機構的試驗與評估，已確認對作物病害的防治深具潛力，許多拮抗微生物甚至已完成微生物農藥商品化，未來應可成為田間應用的趨勢。近年來，高雄區農業改良場致力於微生物農藥之研究工作，如液化澱粉芽孢桿菌 (*B. amyloliquefaciens* PMB01)、枯草桿菌 (*B. subtilis* KHY8)、放線菌 (*Streptomyces saraceticus* KH400, *Streptomyces misionensis* KHY26) 與座殼菌 (*Aschersonia aleyrodis* KHM-01) 等微生物農藥菌種，期望藉由生物防治技術之開發，減少化學藥劑使用頻率，進而達成兼顧農產品安全與環境保育之目標。

關鍵字：生物性農藥、微生物農藥、液化澱粉芽孢桿菌、枯草桿菌、放線菌、座殼菌、永續農業

緒　言

農作物生長過程中難免遭遇病蟲害問題，而農民大多以化學藥劑進行防治，雖達到快速防治之功效，但使用不當，農作物可能發生藥害及藥物殘留的問題，且易使有害生物產生抗藥性，對自然界中的有益微生物及天敵等生態都會造成負面影響。「微生物農藥」的出現，將改變一般人對傳統農藥的刻版印象。隨著安全農藥與永續農業觀念的推廣，微生物農藥的研究漸趨增加及深入，可預見其市場規模將會逐年增加，未來亦會成為植物保護劑研發的主流與趨勢，臺灣地區地處熱帶與亞熱帶交界處，作物種類繁多以及栽培管理方式多變，微生物資源豐富，對於微生物農藥之開發無疑為一得天獨厚之優勢。

微生物農藥可分為微生物殺蟲劑、微生物殺菌劑、微生物殺線蟲劑以及微生物殺草劑等。微生物殺蟲劑菌種例如蘇力菌 (*Bacillus thuringiensis*)，市面上已有相關商品，其主要可防治小菜蛾、甜菜夜蛾與斜紋夜蛾等害蟲[3,4,6]；其他如白殭菌 (*Beauveria* spp.)、黑殭菌 (*Metarhizium* spp.)、綠殭菌 (*Nomuraea* spp.) 等生物性殺蟲劑可用於防治鞘翅目與鱗翅目等害蟲[3,4,13]；核多角體病毒 (Nucleopolyhedrovirus, NPV)，會引發害蟲發生流行性疫病，而導致害蟲棲群大量死亡，常被戲稱為昆蟲「流行性感冒」，可用於防治甜菜夜蛾與斜紋夜蛾等害蟲[3,4]。此外，近年來亦有擬青黴菌 (*Isaria javanica*)、座殼菌 (*Aschersonia* spp.) 等蟲生真菌陸續被發現，針對粉蝨等半翅目害蟲深具防治潛力[5,11,12]。

生物性殺菌劑中廣為人知的則有枯草桿菌 (*Bacillus subtilis*)，目前已有許多商品 (如臺灣寶)，不僅可以直接噴灑於作物葉片上，保護葉部免受病菌侵襲，亦可施用在土壤中或拌種處理，以預防土壤病害[2,3,6,9,17]。此外另有液化澱粉芽孢桿菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*)、放線菌 (*Streptomyces* spp.)、木黴菌 (*Trichoderma* spp.) 及螢光假單胞菌 (*Pseudomonas* spp.) 等拮抗微生物，皆可應用於植物病害之防治[1,2,3,10,14,15,16,18,19,30]。微生物殺線蟲劑則以用於處理種子的殺線蟲劑 Clariva PN 為例，其主要活性成份為巴斯德桿菌 PN1 (*Pasteuria nishizawae* PN1)，用於甜菜種子處理可有效防治甜菜包囊線蟲 (Sugarbeet cyst nematode, *Heterodera schachtii*) 之危害[29]。

而在微生物殺草劑之應用上，主要包括雜草類致病性之昆蟲、真菌、細菌、線蟲及病毒。但必須是具有對環境安全與寄主專一性 (host-specific) 之特性，其中真菌殺草劑較常為人所探討，如盤孢菌屬 (*Colletotrichum*)，鐮孢菌屬 (*Fusarium*)、鏈格孢菌屬 (*Alternaria*) 和尾孢菌屬 (*Cercospora*) 之真菌皆具有生物除草劑的

發展潛力，於國外已有商品問世，如美國的 Collego (*Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *aeschnomene*) 及 DeVine (*Phytophthora palimivora*)、日本的 Camperico (*Xanthomonsas campestris* pv. *poannua*) 與加拿大註冊之 BioMal® (*Colletotrichum. gloeosporioides* f. sp. *malvae*)，國內此部份之研究則較少[8,9]。

一般而言，拮抗微生物可用於防治作物病害，可能的作用機制為 1. 抗生作用：拮抗微生物產生多種抗生物質，直接殺死病原菌、2. 超寄生作用：拮抗微生物具超寄生能力，寄生於植物病原菌，破壞其生理構造 (如分解菌絲)、3. 營養競爭：拮抗微生物生長速度極快，在營養源的競爭上具絕對優勢、4. 誘導植物抗病：拮抗微生物可提升植物抗病力，減少病害發生[3,9]。經由了解正確的機制，設定拮抗微生物正確之使用方式，才可有效提升其病害防治效率。

土壤傳播性病害之微生物農藥-
液化澱粉芽孢桿菌(*Bacillus amyloliquefaciens* PMB01)

液化澱粉芽孢桿菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*) 屬於好氧性、無莢膜、具有鞭毛、活動力強的革蘭氏陽性菌，生長最適溫度為 30-40℃，遇高溫能產生內生孢子 (endospores) 以度過不良環境，分類上為芽孢桿菌類之微生物 (*Bacillus* spp.)，故此菌之菌落型態與生理生化特性與枯草桿菌 (*Bacillus subtilis*) 極為相似，因此當時在分類上暫將液化澱粉芽孢桿菌列為枯草桿菌的亞種之一 (*Bacillus subtilis* subgroup)[22]，直至 1967 年 Welker 與 Compbell 應用核酸雜合技術 (DNA-DNA hybridization) 之方式，發現枯草桿菌和液化澱粉芽孢桿菌之基因相似度並不高，僅 14.7-15.4%，且枯草桿菌 DNA 中之鳥嘌呤與胞嘧啶 (guanine-plus-cytosine, G+C%) 含量為 41.5-43.5%，與液化澱粉芽孢桿菌的 43.5-44.9%具有差異，因此判斷枯草桿菌和液化澱粉芽孢桿菌為為不同的菌種[34,35]。

液化澱粉芽孢桿菌可產生纖維素分解酵素 (cellulase)、蛋白質分解酵素 (protease)、脂質分解酵素 (lipase) 及澱粉分解酵素 (amylase) 等胞外分解酵素，亦可產生伊枯草菌素 (iturin A)、豐原素 (fengycin)、表面活性素 (surfactin)、桿菌溶素 (bacilysin)、大環內脂 (macrolactin) 及聚酮類物質 (difficidin, bacillaene)等環脂肽類 (cyclic lipopeptides) 及抗生素 (antibiotics)，可用以抑制真菌與細菌生長[14,15,16, 21]。依文獻指出，液化澱粉芽孢桿菌可抑制多種病害發生，在真菌病害方面，可抑制草莓灰黴病 (*Botrytis cinerea*)、檬果炭疽病 (*Colletotrichum*

gloeosporioides)、水稻紋枯病 (*Rhizoctonia solani)*、豌豆萎凋病 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*)、番茄萎凋病 (*F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*)、香蕉黃葉病 (*F. oxysporum* f.sp. *cubense*)、茄科疫病 (*Phytophthora capsici*) 及果樹倉儲病害，如蘋果與梨之輪紋病 (*Botryosphaeria dothidea*)。細菌病害方面，可抑制細菌性軟腐病 (*Pectobacterium chrysanthemi*、*P. carotovorum* subsp. *carotovorum*)、瓜類細菌性果斑病 (*Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*)、茄科作物青枯病 (*R. solanacearum*)、柑桔潰瘍病 (*Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*)、茄科植物細菌性斑點病 (*X. axonopodis* pv. *vesicatoria*)、十字花科黑腐病 (*X. campestris* pv. *campestris*)、水稻細菌性條斑病 (*X. oryzae pv. oryzicola*)、水稻白葉枯病 (*X. oryzae* pv. *oryzae*)、梨與蘋果之火傷病 (*Erwinia amylovora*) 等[14,15,16,21,23,27,36]，防治範圍廣泛，但實際防治成效尚待田間試驗加以證明。

高雄區農業改良場 (以下簡稱高雄場) 於 2011 年起，即開始針對作物絕症-茄科青枯病 (bacterial wilt) 與萎凋病 (Fusarium wilt) 研發有效之生物防治技術，應用自蔬菜栽培田區的土壤篩選分離之本土之液化澱粉芽孢桿菌 (*Bacillus amyloliquefaciens* PMB01) 防治青枯病與萎凋病，此一研究亦開創了植物保護技術有效防治土壤傳播性病害之新頁。

青枯病病原細菌為 *Ralstonia solanacearum*，寄主範圍甚廣，目前已知被危害的寄主植物超過 200 種，尤其在番茄、馬鈴薯、茄子、甜椒等茄科作物上危害最劇[20,24,25]。青枯病菌可在土壤中存活長達 10 年以上[26,32]，其造成的青枯病是全世界熱帶、亞熱帶以及夏季溼熱的溫帶地區最致命的作物病害之一，除抗病育種、栽培管理等改善方式之外，並無其他有效之方式可加以防治 [29,31,32]。萎凋病則為土壤傳播性的真菌病害，病原菌為尖鐮孢菌 (*Fusarium oxysporum*)，具有多種生理分化型 (forma specialis, f.sp.)，此病害目前為豆菜類與瓜菜類等作物栽培最大限制因子之一，病原菌棲息於土壤及種子上，由根尖或皮層部直接侵入根部，並沿維管束向上蔓延，植株最後枯死，於潮濕高溫季節最容易發生，上述二種土壤傳播性病害目前均尚無有效防治方法。

高雄場經溫室試驗、長期田間試驗評估及眾多農友試用，發現液化澱粉芽孢桿菌 *B. amyloliquefaciens* PMB01 菌株對「青枯病」與「萎凋病」的防治率皆可達 70%以上，番茄青枯病防治部分，當番茄不處理對照組罹病度達 60.45%時，微生物處理區僅 9.84% (圖一)，農友於田間試用於防治茄子青枯病效果亦令人驚豔，當對照區 (右) 青枯病罹病度達 41.0%時，微生物處理區 (左) 僅 0.8% (圖二)；此外，在萎凋病的防治效果同樣顯著，以胡瓜萎凋病 (*Fusarium oxysporum* f. sp.

cucumerinum) 為防治對象，當小胡瓜不處理對照組罹病度達 47.7%時，微生物處理區僅 11.6% (圖三)。目前本菌種已於 2016 年完成生物農藥登記程序並商品化，上市供農民使用。

圖一、應用 *Bacillus amyloliquefaciens* PMB01 (200 倍稀釋)防治番茄青枯病。當對照區 (右) 罹病度達 60.45%時，微生物處理區 (左) 僅 9.84%，效果極為顯著。

Fig. 1. Application of *Bacillus amyloliquefaciens* PMB01 (200X) to control the bacterial wilt of tomato. Disease severity of bacterial wilt disease in tomato treated with and without PMB01 were 9.84% and 60.84%, respectively.

圖二、農友於田間試用液化澱粉芽孢桿菌 *Bacillus amyloliquefaciens* PMB01 (200 倍稀釋) 防治茄子青枯病。對照區 (右) 青枯病罹病度達 41.0%，微生物處理區 (左) 僅 0.8%。

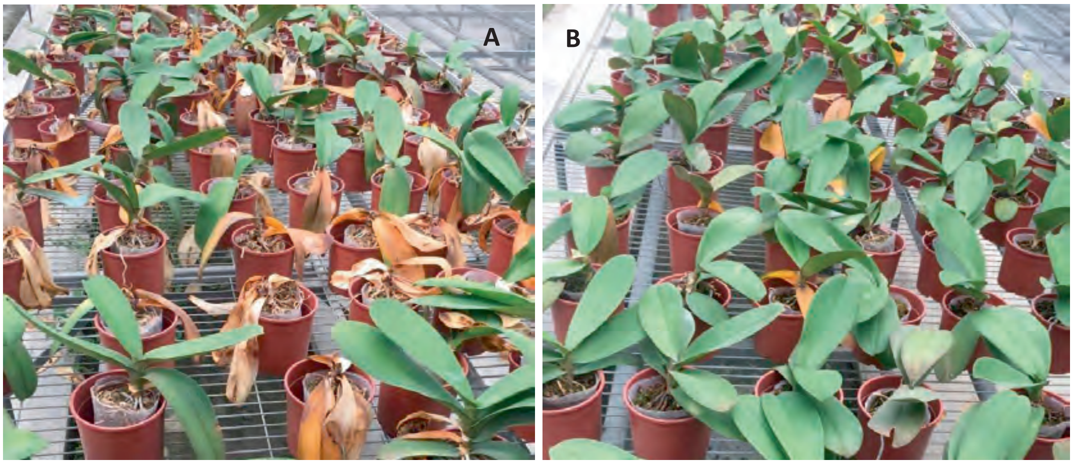
Fig. 2. Application of *Bacillus amyloliquefaciens* PMB01 (200X) to control the bacterial wilt of eggplant. Disease severity of bacterial wilt disease in eggplant treated with and without PMB01 were 0.8% and 41.0%, respectively.

圖三、應用 *Bacillus amyloliquefaciens* PMB01 (200 倍稀釋)防治胡瓜萎凋病。當對照區 (右) 罹病度達 47.7%時，微生物處理區 (左) 僅 11.6%。

Fig. 3. Application of *Bacillus amyloliquefaciens* PMB01 (200X) to control the Fusarium wilt of cucumber. Disease severity of Fusarium wilt in cucumber treated with and without PMB01 were 11.6% and 47.7%, respectively.

此外，於液化澱粉芽孢桿菌 *B. amyloliquefaciens* PMB01 延伸應用部分，其針對軟腐病具 58.2%之防治率 (PMB01 200X: 18.6%、CK: 44.5%) (圖四)；針對黃葉病防治率為 88.4% (PMB01 200X: 1.9%、CK: 16.4%) (圖五)；此外，已完成柑橘潰瘍病 (*Xanthomonas citri* pv. *citri*)、十字花科黑腐病 (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) 等細菌性病害與蓮霧黑腐病 (*Lasiodiplodia theobromae*) 等真菌性病害之實驗室拮抗試驗評估，結果顯示 *B. amyloliquefaciens* PMB01 對上述病原菌均具優異抗生活性 (圖六)，未來將進一步設計田間試驗進行功效確認，評估其應用潛力。

(未完待續)

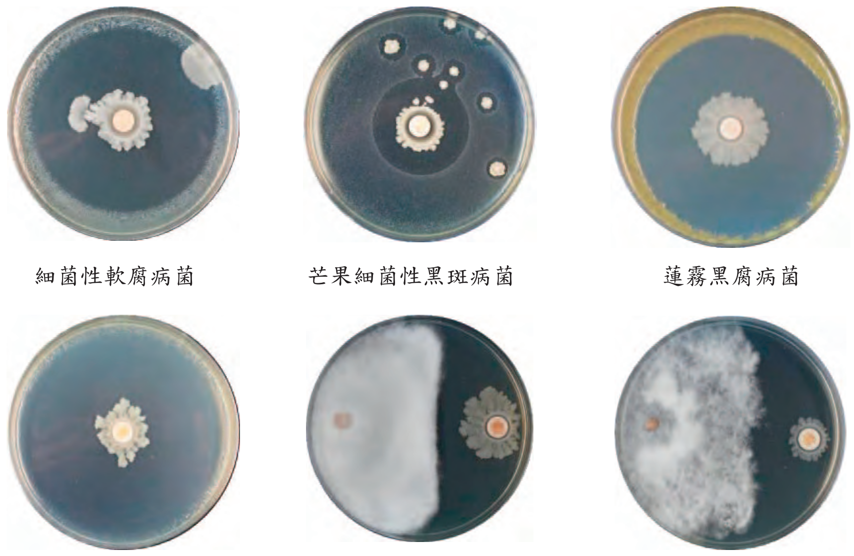


圖四、應用 *Bacillus amyloliquefaciens* PMB01 防治蝴蝶蘭細菌性軟腐病。當對照區 (A) 罹病度達 44.5%時，微生物處理區 (B) 僅 18.6%，防治率約為 58.2%。

Fig. 4. Application of *Bacillus amyloliquefaciens* PMB01 (200X) to control the soft rot of Phalaenopsis. Disease severity of soft rot in Phalaenopsis treated with and without PMB01 were (B) 18.6% and (A) 44.5%, respectively. PMB01 can reduce the severity of soft rot by 58.2%.

圖五、應用 *Bacillus amyloliquefaciens PMB01* 防治蝴蝶蘭黃葉病。當對照區 (A)罹病度達 16.4%時，微生物處理區 (B)僅 1.9%，防治率約為 88.4%。

Fig. 5. Application of *Bacillus amyloliquefaciens* PMB01 (200X) to control the sheath and root rot of Phalaenopsis. Disease severity of sheath and root rot in Phalaenopsis treated with and without PMB01 were (B) 1.9% and (A) 16.4%, respectively. PMB01 can reduce the severity of sheath and root rot by 88.4%.

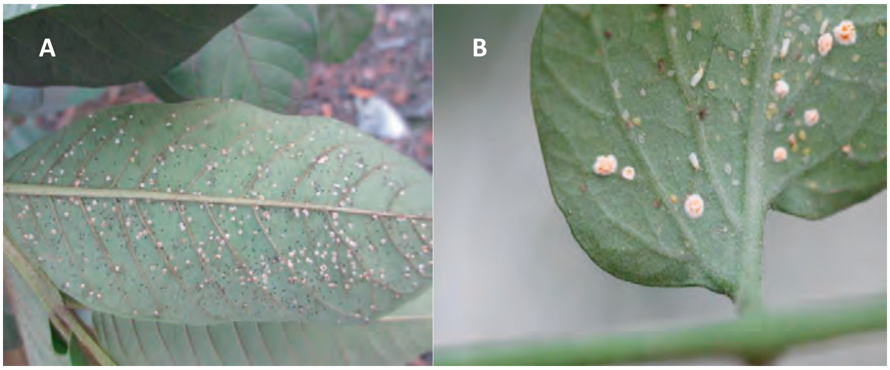


圖六、液化澱粉芽孢桿菌 *Bacillus amyloliquefaciens* PMB01 針對細菌性軟腐病、芒果細菌性黑斑病等 6 種植物病原菌均具優異抗生活性。在 4 種病原細菌之拮抗試驗中 (上排、下排左 1)，液化澱粉芽孢桿菌 PMB01 生長於培養基中央之圓形濾紙圓盤上，病原細菌生長於培養基外圍，透明處為抑制區；於 2 種病原真菌拮抗試驗中 (下排中、下排右一)，液化澱粉芽孢桿菌 PMB01 生長於培養基右側之圓形濾紙圓盤上，培養基左側為病原真菌菌絲，透明處為抑制區。

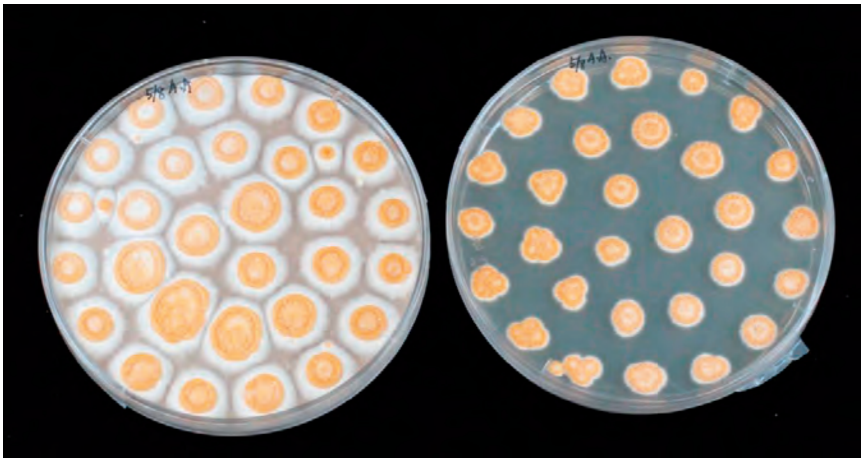
Fig. 6. *Bacillus amyloliquefaciens* PMB01 showed great antagonistic activity against some important pathogen, such as *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum, Xanthomonas campestris* pv. *manigiferaeindicae, Xanthomonas campestris* pv. *campesrtris, Xanthomonas citri* subsp. *citri, Colletotrichum gloeosporioides* and *Lasiodiplodia theobomae.*

應用於粉蝨防治之蟲生真菌-
座殼菌 (*Aschersonia aleyrodis* KHM-01)

座殼菌 (*Aschersonia* spp.) 是一種寄生在半翅目昆蟲上的有益微生物，常在芸香科作物及番石榴等作物上被發現寄生在介殼蟲或粉蝨。此種昆蟲寄生真菌在臺灣田間常可被發現，且自日據時代即有記載。由於被寄生之蟲體死亡後會產生直徑約 2-3 mm 的 *Aschersonia* spp. 之子座 (圖七)，並產生橘黃色孢子 (圖八)。銀葉粉蝨 (*Bemisia argentifolii*) 為同翅目 (Homoptera)、粉蝨科 (Aleyrodidae) 之昆蟲，自 1990 年入侵臺灣後，危害之作物種類愈來愈多，包括蔬菜、果樹及花卉等，雖有多種防治藥劑被核准使用，但目前國內外皆已發現銀葉粉蝨對殺蟲劑產生抗藥性，導致農友加重施藥量，造成環境及生態破壞之問題。



圖七、座殼菌 (*Aschersonia aleyrodis* KHM-01)感染危害作物葉片之粉蝨，圖為葉片佈滿由死亡之粉蝨蟲體上長出之子座 (白色及橘色小點處)。A: 番石榴、B: 番茄。
Fig. 7. The leaves are covered with the dead whitefly infected by *Aschersonia aleyrodis* KHM-01 (white and orange dots, which called stroma). A: guave、B: tomato.



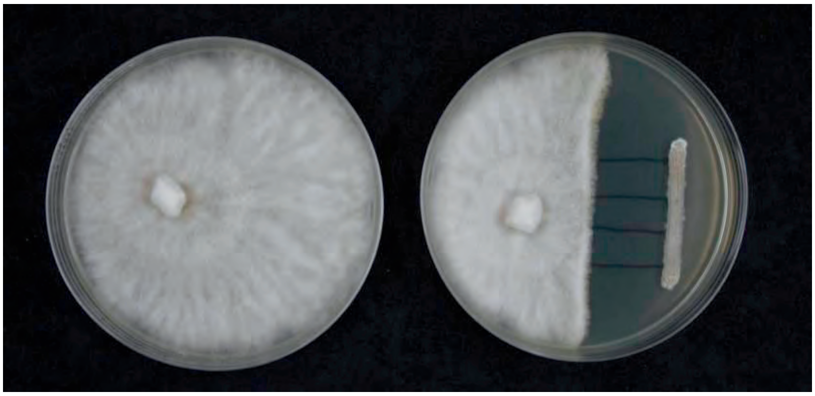
圖八、座殼菌 (*Aschersonia aleyrodis* KHM-01) 於人工培養基產生之黏稠狀橘黃色孢子。
Fig. 8. The characteristics of *Aschersonia aleyrodis* KHM-01 growing on the medium.

高雄場幾年前已著手菌種採集，並分離篩選得到座殼菌 *Aschersonia aleyrodis* KHM-01，在採集的過程中發現，在施藥量低或者是有機栽培的柳橙、柑橘、柚子及番石榴等多項作物上時常可發現被座殼菌寄生的蟲屍，有些有機栽培作物的葉片上，甚至佈滿座殼菌，而與粉蝨或介殼蟲達到一個趨近於動態平衡的狀態。於實驗室以 *A. aleyrodis* KHM-01 防治毛豆及南瓜銀葉粉蝨評估試驗結果顯示，施用 *A. aleyrodis* KHM-01 孢子懸浮液後於短期間內對銀葉粉蝨即達到 40%-60%的致病力，若施用於長期作物並經由蟲屍上的孢子反覆對粉蝨若蟲進行感染，則極有可能達到更高的致病比率。

在數次田間試驗中，可發現 *A. aleyrodis* KHM-01 對於銀葉粉蝨致病力的穩定性仍受田間環境的明顯影響，此一菌株對紫外線傷害的耐受能力並不高，但經由乳化油劑的施用方式後，已可使得菌株之致病力稍趨穩定。此外，座殼菌 *A. aleyrodis* KHM-01 一旦菌落生長成熟後即可產生相當大量的孢子，亦為其優點之一。本場目前持續進行量產工作的改進，期待在不久的將來得以應用座殼菌作為銀葉粉蝨之生物防治劑，廣泛推廣至田間運用，期望能有效減少化學農藥使用。

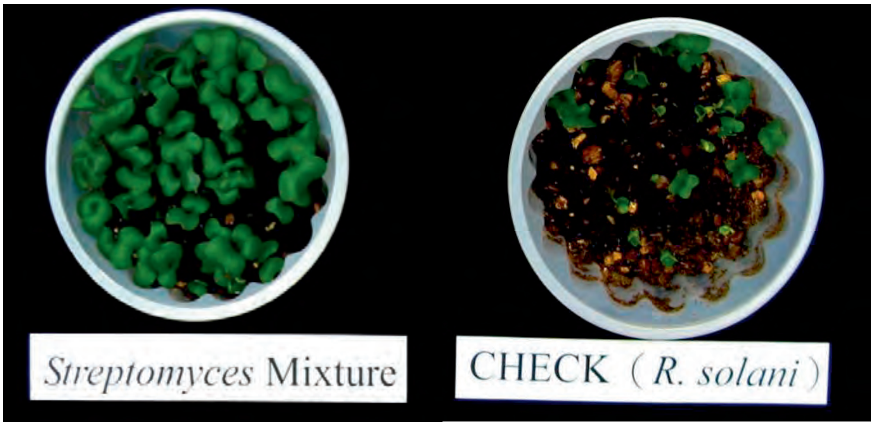
廣效性微生物農藥之開發與應用-
放線菌 (*Streptomyces* spp.) 與枯草桿菌 (*Bacillus subtilis* KHY8)

高雄場於 2007 年自土壤篩選得到放線菌 *Streptomyces saraceticus* KH400 菌株，經測試針對番石榴絕症，立枯病 (*Nalathamala psidii*)，深具防治潛力。除在實驗室測試具優良拮抗效果之外 (圖九)，於田間實際測試，顯示將 *S. saraceticus* KH400 施用於番石榴根圈土壤以及植株傷口保護，能有效降低番石榴立枯病之罹病率 (6.7%)，相較農友慣行之修枝剪酒精消毒處理組 (27.8%) 與未處理對照組 (48.5%)，具顯著差異；此外其對甘藍苗立枯病 *Rhizoctonia solani* 亦具有抑制效果，直接應用於甘藍苗期病害之防治評估，結果顯示可有效降低立枯病之發生 (圖十)。



圖九、放線菌 *Streptomyces saraceticus* KH400 針對番石榴絕症立枯病 (*Nalathamala psidii*) 具優良拮抗效果。

Fig. 9. *Streptomyces saraceticus* KH400 showed great antagonistic activity against *Nalathamala psidii.*



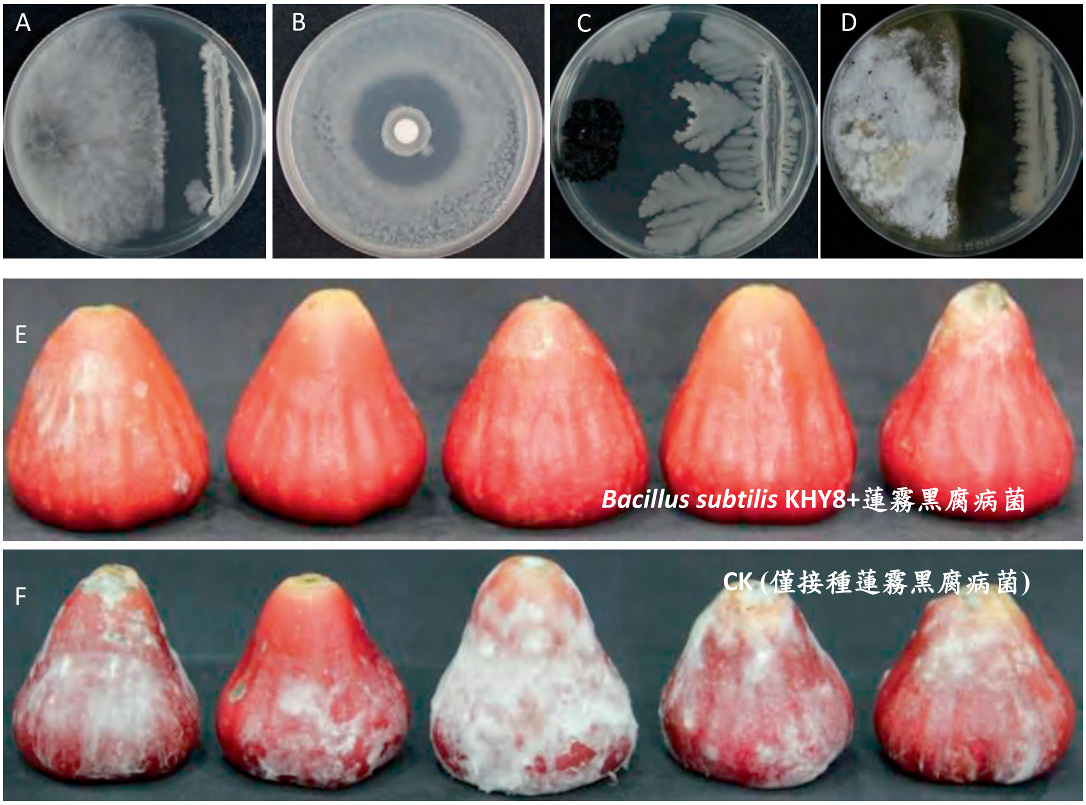
圖十、放線菌 *Streptomyces saraceticus* KH400 菌株，經測試對甘藍苗立枯病 *Rhizoctonia solani* 具有抑制效果，應用於甘藍苗期病害之防治評估，結果顯示可有效降低立枯病之發生 (左)。
Fig. 10. Appling of *Streptomyces saraceticus* KH400 can reduce the disease severity of Rhizoctonia blight in cabbage.

此外，本場並已於 2015 年經分離篩選得到枯草桿菌 *Bacillus subtilis* KHY8 與放線菌 *Streptomyces misionensis* KHY26 等兩種拮抗細菌。前者針對蓮霧黑腐病菌 (*Lasiodiplodia theobromae*)、番石榴黑星病菌 (*Phyllosticta psidiicola*) 及番石榴瘡痂病菌 (*Pestalotiopsis psidii*) 等多種病原真菌以及芒果黑斑病菌 (*Xanthomonas campestris* pv. *manigiferaeindicae*)、白菜軟腐病菌 (*Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*) 等 2 種病原細菌具有優良抗生活性 (圖十一、A-D)。後者則針對蓮霧黑腐病菌、番石榴黑星病菌、番石榴瘡痂病菌、木瓜根腐病菌 (*Pythium* spp.) 與芒果畸形病菌 (*Fusarium mangiferae*) 等包含卵菌類及子囊菌類等 6 種病原真菌具有優異的拮抗活性 (圖十二、A-D)，隨後並實際於田間進行多項病害防治試驗評估工作。

在果實採收期病害防治效果部分，已分別於蓮霧與棗進行黑腐病及炭疽病之防治試驗。結果顯示經處理枯草桿菌 *B. subtilis* KHY8 後，對蓮霧果實黑腐病菌具有良好防治效果 (圖十一、E-F)。而以枯草桿菌 *B. subtilis* KHY8 或放線菌 *S. misionensis* KHY26 處理，對棗炭疽病皆有良好之防治效果，甚至較化學藥劑處理組為佳 (本試驗之化學藥劑處理為克收欣)，其中又以放線菌 *S. misionensis* KHY26 處理之防治效果尤佳 (圖十二、E-G)。

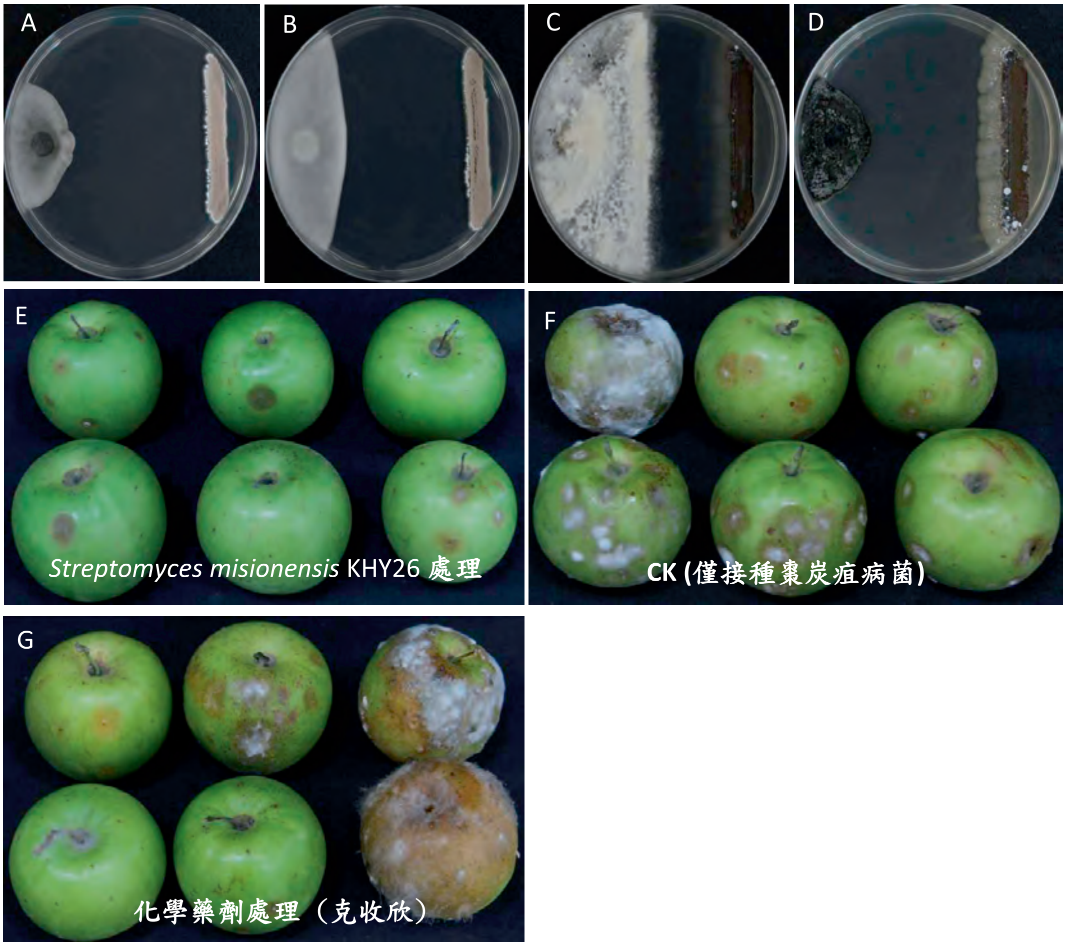
芒果黑斑病菌 (*Xanthomonas campestris* pv. *manigiferaeindicae*) 目前為限制我國芒果產業發展的關鍵病害。目前能有效防治細菌性病害的藥劑種類較少，被正式核准使用藥劑的主要為含銅製劑及抗生素劑，核准使用的藥劑則有:10%維利黴

素溶液 500 倍、81.3%嘉賜銅可濕性粉劑 1,000 倍、20%歐索林酸可濕性粉劑 1,000 倍、43.5%嘉賜快得寧可濕性粉劑 1,000 倍、27.12%三元硫酸銅水懸劑 500 倍、35%護粒丹可濕性粉劑 1,000 倍與 61.4%氫氧化銅水分散性粒劑 500 倍等，但農友反應防治效果不彰，且病原菌容易產生抗藥性。田間試驗結果顯示，若自芒果開花初期開始進行施用枯草桿菌 *B. subtilis* KHY8，每 7 天施藥 1 次，直至套袋為止，可對芒果黑斑病有良好之防治成效，防治率高達 79%；就罹病程度而言，KHY8 液劑處理組之罹病度僅 15%，遠低於對照組 70%的罹病度 (圖十三)，防治成效顯著，枯草桿菌 *B. subtilis* KHY8 亦已於 109 年 5 月公告，核准用於芒果黑斑病、炭疽病及水稻稻熱病之防治。



圖十一、枯草桿菌 *Bacillus subtilis* KHY8 針對 (A) 蓮霧黑腐病菌 (*Lasiodiplodia theobromae*)、(B)芒果黑斑病菌 (*Xanthomonas campestris* pv. *manigiferaeindicae*)、(C) 番石榴黑星病菌 (*Phyllosticta psidiicola*)及 (D) 番石榴瘡痂病菌 (*Pestalotiopsis psidii*)具有優良抗生活性。在果實採收期病害防治效果部分，結果顯示經處理枯草桿菌 *B. subtilis* KHY8 後，對蓮霧果實黑腐病菌具有良好防治效果 (E)，相較對照組(F)有顯著差異。

Fig. 11. *Bacillus subtilis* KHY8 showed great antagonistic activity against (A)*Lasiodiplodia theobromae*, (B)*Xanthomonas campestris* pv. *manigiferaeindicae*, (C)*Phyllosticta psidiicola* and (D)*Pestalotiopsis psidii*. *B. subtilis* KHY8 had a good control effect (E) on the black rot of wax apple, which was significantly different from the control group (F).



圖十二、放線菌 *Streptomyces misionensis* KHY26 針對 (A) 蓮霧黑腐病菌 (*Lasiodiplodia theobromae*)、(B) 木瓜根腐病菌 (*Pythium* spp.)、(C) 番石榴瘡痂病菌 (*Pestalotiopsis psidii*) 及 (D) 番石榴黑星病菌 (*Phyllosticta psidiicola*) 具有優良抗生活性。在果實採收期病害防治效果部分，結果顯示經處理放線菌 *Streptomyces misionensis* KHY26 後，對棗炭疽病皆有良好之防治效果 (E)，除相較對照組 (F) 有顯著差異之外，甚至較 (G) 化學藥劑 (克收欣) 處理組為佳。

Fig. 12. *Streptomyces misionensis* KHY26 showed great antagonistic activity against (A)*Lasiodiplodia theobromae,* (B) *Pythium* spp., (C) *Pestalotiopsis psidii* and (D) *Phyllosticta psidiicola.* *Streptomyces misionensis* KHY26 had a good control effect (E) on the anthracnose of jujube, which was significantly different from the control group (F) and chemical pesticide, Kresoxim-Methyl (G).

圖十三、*Bacillus subtilis* KHY8 對芒果黑斑病之防治效果。
Fig. 13. *Bacillus subtilis* KHY8 had a good control effect (left) on the bacterial black spot of mango, which was significantly different from the control group (right).

應用微生物農藥進行病害防治之優缺點及限制因子

在應用有益微生物防治作物病害的過程中，最常遭遇到的問題不外乎微生物存活時間長短。有益微生物存活時間主要與環境條件及逆境有關，如果施用的場合並非有益微生物適合的生長環境，則病害防治效果將會大幅減低。因此在開發的過程中，如能針對以上問題加以研究並改進，避免開發後有應用性不良或效果不穩定的狀況發生，將是決定一個有益微生物產品開發成功與否之關鍵。另一方面，生物防治著重預防勝於治療，雖不若農民慣用化學藥劑具有立竿見影之效，但所含的有益微生物可增進作物生長，保護作物不受病原菌感染，且對環境友善，對土壤亦不會有任何不良影響。

一般而言，相較於化學農藥，微生物農藥的作用機制是具有專一性，只對特定病蟲有作用，對於人類、動物與害蟲的天敵通常不具毒性，故應用微生物農藥防治作物病害具有下列優點：1. 作用機制較複雜且多樣化，病原菌不易產生抗藥性，2. 有時可控制化學農藥無法防治之病蟲害，3. 由於毒性較低甚至無毒性，且無農藥殘留問題，如應用於作物採收期則無安全採收期的限制，4. 容易被分解，不會在環境中殘留與累積。

微生物農藥之開發，正好彌補化學農藥的缺點。目前微生物農藥雖然具有許多化學農藥難以具備的優點，其本身也存在許多缺點，如 1. 防治效果較化學農藥緩慢，2. 有些微生物農藥種類之有效成分較複雜，3. 病害防治的廣效性較差，4. 對環境耐受性較低，容易因為紫外線、溫度與乾燥等因素而導致活性降低。故如何適當使用微生物農藥使缺點降至最少，實為影響病蟲害防治成敗最重要之因素。

結論與展望

應用微生物農藥防治作物病害，是目前最具潛力的病害防治策略之一，其應用範圍廣泛，若能搭配其他栽培管理措施，如合理化施肥及安全用藥，將能使微生物農藥達到更好的防治效果。隨著抗病品種之選擇、適地適種、落實清園工作與永續農業觀念的推廣，微生物農藥菌種的研究漸趨增加及深入，可預見微生物農藥市場規模將會逐年增加，本土微生物資源的調查、篩選、鑑定和改良工作，無疑成為試驗研究機構未來必須特別重視之重要課題，同時須加強分子生物學及遺傳工程之研究，以深入瞭解微生物製劑的作用機制。此外，亦須建立微生物製劑生產流程與田間施用技術，開發新製劑配方和品質管制的研究，以提升生物農藥於田間作物病害防治之效果。最後則是持續強化生物農藥研發應用管理單位之效率，有效改善相關管理規範架構，提升產品登記之效率，期望在未來，能夠藉由產官學研密切合作結合，強化生物農藥產業發展，加速國內研發產品合法上市，進一步關注全球市場，將臺灣生物農藥產業推向國際化的高峰。

謝　　辭

本文提及之技術成果，承蒙行政院農業委員會動植物防疫檢疫局於科技計畫上之支持，以及高雄區農業改良場各級長官之鼓勵與支持；本文繕寫期間，亦感謝高雄場植保研究室同仁協助彙整相關成果資料，使全文得以順利完成，在此一併致上無限謝忱。

引用文獻

1. 石信德、黃振文。2005。保護植物的鏈黴菌。科學發展期刊 391: 22-27。
2. 邱安隆。2004。植物病害生物製劑研發與應用。花蓮區農業專訊 48: 21-24。
3. 林俊義、安寶貞、張清安、羅朝村、謝廷芳。2004。作物病害之非農藥防治。行政院農業委員會農業試驗所特刊 110 號。53 頁。
4. 林立、王朝坤。2008。病原真菌在病蟲害防治之應用。花蓮區農業專訊 63: 16-18。
5. 林立、呂柏寬、潘蕙如。2017。爪哇擬青黴菌防治銀葉粉蝨之商品化研究。中華植物植物保護學會 105 年年會論文宣讀。(摘要)
6. 高穗生、曾經洲、洪巧珍、蔡勇勝、謝奉家。2008。生物農藥簡介。作物診斷與農藥

安全使用手冊 p.46-60。

7. 袁秋英。2010。生物性除草劑介紹-研發現況與應用障礙。農地雜草管理與除草劑安全使用研習會專刊 p.63-77。
8. 袁秋英、謝玉貞。2012。生物除草劑之研發與應用。行政院農業委員會農政與農情 (101 年 9 月)。
9. 陳俊位、鄧雅靜、曾德賜。2007。功能性微生物製劑在有機作物栽培病害管理上之應用。臺中區農業改良場特刊 p.147-181。
10. 曾國欽、林元春、徐世典。1994。臺灣作物葉表螢光假單胞菌及其對植物病原細菌之拮抗作用。中華民國植物病理學會刊 3:24-33.
11. 曾敏南。2010。銀葉粉蝨的天敵--座殼菌之益處。高雄區農業專訊 71: 18-19。
12. 曾敏南。2012。昆蟲寄生真菌座殼菌 (*Aschersonia aleyrodis*) 防治銀葉粉蝨評估。2012 年有機農業研究團研發成果研討會專刊 p.21-30。
13. 蔡勇勝、楊芃仙、洪德惠、高穗生。2006。本土白殭菌 (*Beauveria bassiana*) 菌株之特性差異比較。中華植物保護學會會刊 48: 117-128。
14. 謝奉家、高穗生。2011。具商品化潛力之多功能液化澱粉芽孢桿菌。海峽兩岸生物防治研討會論文專刊 p.28-29。
15. 謝奉家。2011。臺灣芽孢桿菌生物殺菌劑的研發與應用現況。行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所技術專刊 205: 1-11。
16. 謝奉家。2012。具商品化潛力之多功能液化澱粉芽孢桿菌。農業生技產業季刊 32: 42-47。
17. 謝廷芳、余志儒、石信德。2006。生物防治在綠色農業體系中所扮演的角色。生物技術與綠色農業研討會專刊 p.19-27。
18. 羅朝村。2006。木黴菌之簡介與應用。農業生技產業季刊 8: 17-19。
19. 羅朝村、黃秀華。2009。木黴菌、病原菌與作物的三角關係。科學發展期刊 443: 34-41。
20. Chen, Y. J., Lin, Y. S., and Chung, W. H. 2012. Bacterial wilt of sweet potato caused by *Ralstonia solanacearum*. J. Gen. Plant Pathol. 78: 80-84.
21. Emmert, E. A. B., and Handelsman, J. 1999. Biocontrol of plant disease: A (Gram-.) positive perspective. FEMS Microbiol. Lett. 171: 1-9.
22. Fukumoto, J. 1943. Studies on the production of bacterial amylase. I. Isolation of bacteria secreting potent amylases and their distribution. J. Agr. Chem. Soc. Jpn. 19: 487-503. (in Japanese)
23. Guo, J. H., Guo, Y. H., Zhang, L. X., Qi, H. Y., and Fang, Z. D. 2001. Screening for biocontrol agents against *Ralstonia solanacearum*. J. Biol. Control 17: 101-106.
24. Hayward, A. C. 1991. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. Ann. Rev. Phytopathol. 29: 65-89.
25. Hayward, A. C. 2005. Research on bacterial wilt: aperspective on international linkages and access to the literature. p.1-8 in Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex. C. Allen, P. Prior, and A. C. Hayward eds. APS press, St. Paul, MN. 510

pp.
26. Kelman, A., and Sekqueira, L. 1965. Root-to-root spread of *Pseudomonas solanacearum.* Phytopathology55: 304-309.
27. Kijima, T. 1992. Biological control of soil-borne disease with antagonistic bacteria. Proceedinds of Kanto-Tosan Plant Protection Soc. 39: 1-5.
28. McCarter, S. M., and Jaworski, C. A. 1968. Greenhouse studies on the spread of *Pseudomonas solanacearum* in tomato plants by clipping. Plant. Dis. Rep. 52: 330-334.
29. Musil, K. M. 2016. Evaluations of biological control agents for the management of soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*) in soybean (Glycine max L. Merr.). University of Nebraska-Lincoln.
30. Moura, A. B., and da Romeiro, R. S. 2000. Use of actinomycetes preselected for the control of *Ralstonia solanacearum* as tomato plant growth promoters. Rev. Ceres 47: 613-626.
31. Saddler, G. S. 2005. Management of bacterial wilt disease. Pages 121-132 in Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex. C. Allen, P. Prior, and A. C. Hayward eds. APS press, St. Paul, MN. 510 pp.
32. Satou, M., Kubota, M., and Nishi, K. 2006. Measurement of horizontal and vertical movement of *Ralstonia solanacearum* in soil. J. Phytopathol. 154: 592-597.
33. Verma, R. K., and Shekhawat, G. S. 1991. Effect of crop rotation and chemical soil treatment on bacterial wilt of potato. Indian Phytopathol. 44: 5-8.
34. Welker N. E, and Campbell L. L. 1967. Unrelatedness of *Bacillus amyloliquefaciens* and *Bacillus subtilis*. J Bacteriol. 94: 1124-1130.
35. Welker N. E., Campbell L. L. 1967. Crystallization and properties of alpha-amylase from five strains of *Bacillus amyloliquefaciens*. Biochemistry 6: 3681-3689.
36. Wu, W. S., and Chen, T. W. 1999. Biological control of carrot black rot. J. Phytopathol. 147: 99-104.

ABSTRACT

Development and Application of Novel Microbial agents for managing Important Pests

Chou, H. P.[1], Chen, T. Y. [1], Chen, M. Y. [1], Tseng, M. N. [1]

1. Crop Environment Section, Kaohsiung District Agricultural Research and Extension Station, Changzhi, Pingtung, Taiwan, R.O.C.

Microbial pesticide is a kind of "biological pesticide". According to the definition of biological pesticide by COA, all natural substances, such as animals, plants, microorganisms and their derivatives, including "natural material pesticide", "microbial pesticide", "biochemical pesticide" and microbial pesticide produced by genetic engineering, are biological pesticides. At present, microbial pesticide is the most researched project. Except for target diseases, insects, grasses, and other harmful organisms, microbial pesticide is non-toxic to mammals, natural enemies, livestock, probiotics and insects, and there are no residual pesticides and pesticides resistance problems. Compared with chemical pesticides, microbial pesticides have a slower effect, and it has the potential to control crop diseases, such as *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Streptomyces* spp., *Trichoderma* spp., *Pseudomonas* spp., *Bacillus thuringiensis*, *Isaria javanica*, *Beauveria* spp., *Metarhizium* spp., *Aschersonia* spp.) and so on. Most of the above antagonism had been tested and evaluated by various experimental and research institutes and had confirmed that they have high potential for controlling some important pests. Some antagonism have even completed the commercialization and registered as the microbial pesticide currently, which should be the trend of field application in the future. In recent years, Kaohsiung District Agricultural Research and Extension Station (KDARES) aims to research of microbial pesticides and its application, such as *Bacillus amyloliquefaciens* PMB01, *Bacillus subtilis* KHY8, *Streptomyces saraceticu*s KH400, *Streptomyces misionensis* KHY26 and the entomogenous fungi, *Aschersonia aleyrodis* KHM-01, etc. We hope that the development of biological control technology can reduce the use of chemical agents and achieve the goal of both agricultural product safety and environmental protection in near future.

Key words: Biological pesticide, Microbial pesticide, *Bacillus amyloliquefaciens* PMB01, *Bacillus subtilis* KHY8, *Streptomyces saraceticus* KH400, *Streptomyces misionensis* KHY26, *Aschersonia aleyrodis* KHM-01.